

Fermentación en estado sólido de caña de azúcar y harina de hojas de *Moringa oleifera* para alimentación animal

Solid state fermentation of sugar cane and *Moringa oleifera* leaf meal for animal feeding

Nadir Reyes-Sánchez¹, Bryan Mendieta-Araica¹, Rosario Rodríguez², Norlan Caldera³

¹ PhD en ciencia animal, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5579-9396> / ¹ PhD en ciencia animal, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8077-7420> / ² MSc. en agroecología y desarrollo sostenible, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4390-1987> / ³ MSc. en producción animal, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0807-7921> / Autor para correspondencia: nadir.reyes@ci.una.edu.ni

Universidad Nacional Agraria



RESUMEN

Se estudió la fermentación en estado sólido de caña de azúcar picada (FESCA) y diferentes niveles (0, 5, 7.5 y 10%) de harina de hoja de *Moringa oleifera* (HHMO) como fuente proteica en un diseño completamente aleatorizado, con cuatro tratamientos y tres repeticiones por tratamiento. Durante el proceso fermentativo, se midió el pH, temperatura ambiente y de fermentación, cada cuatro horas, en cada repetición por tratamiento, durante un período de 36 horas. Se analizó el contenido de materia seca (MS), proteína bruta (PB), Fibra Detergente Neutro (FDN) y la Digestibilidad *in vitro* de la MS (DIVMS). No se observó efecto estadístico significativo de la temperatura ambiente ($28.85^{\circ}\text{C} \pm 3.3$), ni de los niveles de inclusión de HHMO sobre la temperatura de fermentación ($26.07^{\circ}\text{C} \pm 1.94$), ni del pH del producto en fermentación (5.75 ± 0.46). El contenido de PB aumenta significativamente ($p < 0.05$) de 12.3 a 24.3% cuando la inclusión de HHMO se incrementó de 0% a 10% y no existe diferencia estadística entre los niveles de inclusión de 5% y 7.5% de HHMO, con 20.8 y 21.4%, respectivamente. La inclusión de HHMO mejora significativamente la DIVMS. Se concluye que la inclusión de HHMO aumenta significativamente el contenido de PB y mejora la DIVMS en la FESCA y que 10% es la proporción más adecuada de HHMO como aditivo para estimular el crecimiento microbiano y su contenido proteico.

Palabras clave: proteína bruta, materia seca, fibra detergente neutro, digestibilidad.

Abreviatura: FESCA, fermentación en estado sólido de caña de azúcar; HHMO, harina de hoja de *Moringa oleifera*.

ABSTRACT

Solid state fermentation (FES) of the mixture of shredded sugar cane and different levels (0, 5, 7.5 and 10%) of *Moringa oleifera* leaf meal (HHMO) as protein source was studied in a completely randomized design, with four treatments and three replicates each one. During fermentative process, pH, environmental and fermentation temperature was recorded every four hours in each replicate by treatment during a 36 h period. Dry matter content (MS), Crude protein (PB), Neutral detergent fiber (FDN) and In vitro digestibility of dry matter (DIVMS) were analyzed. No statistical significance was observed for environmental temperature ($28.85^{\circ}\text{C} \pm 3.3$), nor inclusion levels of HHMO over fermentation temperature ($26.07^{\circ}\text{C} \pm 1.94$) nor pH of the fermentation product (5.75 ± 0.46). Significant increase of Crude protein content occurs ($P < 0.05$) from 12.3 to 24.3% when inclusion of HHMO increased from 0% to 10% and no significant differences exist between inclusion levels of 5% and 7.5% of HHMO with 20.8 and 21.4%, respectively. Inclusion of HHMO significantly improves DIVMS even when no significant differences were found in respect to FESCA with 0% of HHMO. It can be conclude that HHMO inclusion significantly increase PB content and improves DIVMS on FES of sugar cane mixtures and 10% in the most adequate proportion of HHMO as additive to stimulate microbial growing and its protein content.

Keywords: raw protein, dry matter, neutral detergent fiber, digestibility.

Recibido: 22 de marzo del 2018

Aceptado: 4 de junio del 2018



Copyright 2018. Universidad Nacional Agraria

Los artículos de la revista La Calera de la Universidad Nacional Agraria, Nicaragua, se comparten bajo términos de la licencia Creative Commons: Reconocimiento, No Comercial, Compartir Igual. Las autorizaciones adicionales a las aquí delimitadas se pueden obtener en el correo freddy.aleman@ci.una.edu.ni

En Nicaragua y los países tropicales en general, la alimentación de los rumiantes está basada primordialmente en el pastoreo de gramíneas, sin embargo, la producción de pastos no es suficiente para satisfacer los requerimientos de los animales, principalmente durante el período seco; en este período los animales sufren un estrés nutricional y consecuentemente disminuye la productividad (pérdida de condición corporal debida a la movilización de sus propias reservas, disminución en la producción de leche, acortamiento del período de lactancia, pérdida de peso, ausencia de celo, disminución de la tasa de preñez y en casos extremos la muerte).

El uso de alimentos concentrados no siempre es una opción viable, debido a aspectos relacionados con el precio y la disponibilidad de los mismos, sobre todo para pequeños y medianos productores (Reyes-Sánchez *et al.*, 2009).

La búsqueda permanente de alternativas de solución a la problemática de escasés de pastos durante la época seca, ha llevado a considerar a la caña de azúcar como una alternativa viable, ya que ofrece variedad de productos y subproductos para la alimentación animal, presentando ventajas sobre otros cultivos forrajeros por la cantidad de materia seca que produce y los carbohidratos solubles que acumula con la edad, lo que permite mantener su potencial energético durante el periodo seco, no obstante, su bajo contenido de proteína, su lenta digestión y velocidad de tránsito de la fibra, no permiten optimizar su utilización en la alimentación de rumiantes.

Otra opción es la utilización de árboles y arbustos forrajeros, los cuales tienen gran potencial para mejorar los sistemas de producción animal por su alto rendimiento de forraje, su capacidad de rebrotar y ofrecer forraje de buena calidad en localidades con sequía prolongada (Perdomo, 1991). *Moringa oleifera* es uno de estos árboles forrajeros que crece bien en todo tipo de suelos desde ácidos hasta alcalinos, es tolerante a la sequía y con alta producción de forraje que se sitúa entre 24 y 99 ton MS/ha/año, las hojas frescas contienen entre 17 y 24.6% de PB y 2.73 Mcal de EM/kgMS (Reyes-Sánchez *et al.*, 2006), es rico en vitaminas A, B y C, calcio, hierro y en dos aminoácidos esenciales (metionina y cistina) generalmente deficientes en otros alimentos (Makkar y Becker, 1996) y ha sido utilizado en una gran variedad de dietas para distintas especies animales (Reyes-Sánchez *et al.*, 2009; Reyes-Sánchez *et al.*, 2006; Mendieta-Araica *et al.*, 2011; Mendieta-Araica *et al.*, 2010).

Se han desarrollado tecnologías de enriquecimiento proteico de la caña de azúcar por medio de la fer-

mentación en estado sólido (FES), con las que se obtiene un concentrado rico en proteínas a base de levaduras (Elías *et al.*, 1990). En tal sentido, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de diferentes niveles de inclusión de harina de hoja de *Moringa oleifera* (HHMO) como aditivo en el proceso de fermentación en estado sólido de la caña de azúcar (FESCA) en condiciones comerciales sobre los indicadores fermentativos (temperatura de fermentación y pH) y su composición nutricional (componente proteico, fracción fibrosa y la digestibilidad *in vitro* de la materia seca).

MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio se realizó en la finca Santa Rosa de la Universidad Nacional Agraria (UNA) en, Managua, Nicaragua, localizada geográficamente a los 12°08'33" de latitud norte y 86°10'31" de longitud oeste. La temperatura media anual es de 26.9°C, la precipitación histórica de 1 119.8 mm anuales y humedad relativa de 72% (INETER, 2009). Durante la semana en que se efectuó este estudio, la temperatura ambiente osciló entre 24.8 y 34.5°C, con una humedad relativa entre 39.8 y 69.9% y no hubo precipitaciones.

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con cinco tratamientos y tres repeticiones. Los tratamientos en estudio fueron:

1. FESCA 0% HHMO: 97.25% caña de azúcar (CA) + 2.25% NNP (urea + sulfato de amonio) + 0.5% sal minero-vitaminica (SMV)
2. FESCA 5% HHMO: 84.25% CA + 5% HHMO + 5% pulidura (PU) + 3% melaza (MEL) + 2.25% de NNP + 0.5% SMV
3. FESCA 7.5% HHMO: 81.75% CA + 7.5% HHMO + 5% SE + 3% MEL + 2.25% NNP + 0.5% SMV
4. FESCA 10% HHMO: 79.25% CA + 10% HHMO + 5% SE + 3% MEL + 2.25% NNP + 0.5% SMV

Los tratamientos fueron preparados utilizando tallos limpios de caña de azúcar (sin hojas, sin paja y sin cogollos) de una variedad comercial no identificada, con doce meses de edad. Los tallos se cosecharon con machete y se procesaron con una picadora mecánica para obtener un tamaño de partículas de 2 mm. La caña picada, fue distribuida sobre una superficie lisa de cemento, el espesor de la capa era de 10 centímetros. Se preparó una mezcla de dos fuentes de NNP y sal minero-vitaminica, la que se distribuyó de manera uniforme sobre la caña de azúcar picada, además se le agregó pulidura y melaza diluida en agua. Posteriormente se agregó la HHMO según lo correspondiente a cada tratamiento. Todos los componentes mencio-

nados se mezclaron homogéneamente, con la ayuda de un rastrillo forrajero.

Cada tratamiento consistió en un lote de 30 kg, dividido en tres repeticiones de 10 kg cada una, las que se extendieron en un piso de cemento que se encontraba bajo sombra, con espesor de capa de 10 cm para garantizar las condiciones aeróbicas necesaria para que se dé la fermentación.

Se estableció un período para el proceso de fermentación en estado sólido de 36 h. A las cuatro horas de iniciado el proceso de fermentación se removió cada mezcla para favorecer el proceso de FES. Se midió la temperatura ambiente y la temperatura de fermentación de cada repetición por tratamiento cada cuatro horas. Simultáneamente se midió el pH, utilizando un pH/temperature meter, model pH55/ph56 pocket size con electrodo reemplazable, marca pH Martini Instruments by Milwaukee Instruments, Inc.

Al inicio y al final del proceso fermentativo, se recolectaron muestras aleatorias de cada repetición por tratamiento con un peso fresco de 200 gramos para determinar el contenido de MS. Al finalizar la fermentación, el material de cada repetición por tratamiento se dispersó, en capas delgadas de dos cm de alto, para secarlo al sol sobre una superficie de cemento y se revolvió cada dos horas. Una vez seco, se tomaron muestras aleatorias de 100 g de cada repetición por tratamiento. En éstas se determinó el contenido de Proteína Bruta (N x 6.25) usando el método de Kjeldahl AOAC (1984), el contenido de Fibra Neutro Detergente fue analizado según lo descrito por Van Soest *et al.*, (1991) utilizando sulfito de sodio. Además, se determinó la Digestibilidad *in vitro* de la Materia Seca (DIVMS) usando el método *in vitro* modificado de una etapa (VOS) (Mbwire y Udén, 1991).

A los datos se les realizó análisis de varianza (ANDEVA) para determinar el efecto de los tratamientos sobre las variables estudiadas usando el Modelo Lineal General (GLM) por el procedimiento del Software Minitab Statistical Versión 16.0 (Minitab, 2014). Las comparaciones de medias se realizaron por el procedimiento de Tukey cuando las diferencias entre las medias eran significativas ($p < 0.05$).

Cuadro 1. Variaciones de la temperatura ambiente (°C) y la temperatura de fermentación durante el proceso de 36 horas de FESCA con diferentes niveles de HHMO

Tratamientos	Tiempo de fermentación (horas)									
	0	4	8	12	16	20	24	28	32	36
Temperatura ambiente	30.5	24.8	25.5	25.9	29.7	34.5	32.2	29.5	25.4	30.5
FESCA 0% HHMO	28.4	24.6	25.0	24.6	25.9	25.4	29.1	28.9	24.8	28.4
FESCA 5% HHMO	26.8	24.5	23.3	23.2	25.3	27.9	28.9	27.6	23.5	26.8
FESCA 7.5% HHMO	28.3	24.4	24.4	23.8	25.7	25.6	27.5	27.5	24.4	28.3
FESCA 10% HHMO	27.0	24.3	23.5	23.2	25.2	29.0	28.9	27.7	24.2	27.0

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Según Vivas y Carvajal (2004) la FES se desarrolla a partir de la microflora epifítica (levaduras y bacterias) presente en la caña de azúcar, los que se nutren de los azúcares presentes y cuya reproducción y desarrollo se favorece mediante el enriquecimiento del medio de cultivo con los nutrientes requeridos por estos microorganismos y el control que se ejerce sobre el pH y la temperatura de fermentación, igualmente reportan *Candida* y *Saccharomyces* como los dos grandes grupos de microorganismos intervinientes en la fermentación de la caña de azúcar, siendo la *Candida pentolopesii* la que constituye hasta el 37% de la población microbiana total y junto con la *Saccharomyces cerevisiae* (35%) completan más del 70% de la totalidad de microorganismos presentes en la fermentación de la planta.

La levadura *Saccharomyces cerevisiae* es un microorganismo unicelular de fácil cultivo, con gran velocidad de división celular (aproximadamente dos horas). Sus colonias pueden crecer y madurar en tres días y tienen un color amarillento oscuro. Para su reproducción necesitan fuentes de carbono (glucosa, fructosa, celulosa, manosa, galactosa maltosa, sacarosa, rafinosa, entre otros), fuentes de nitrógeno (orgánico e inorgánico), fuentes de fósforo, vitaminas y distintos elementos traza.

Temperatura ambiente y temperatura de fermentación. El significado de la temperatura en el desarrollo de un proceso biológico puede determinar efectos tan importantes como la desnaturalización de proteínas, inhibición de un metabolito o bien la muerte de células. El control de la temperatura es uno de los factores que decide el buen desarrollo de la fermentación en estado sólido y deberá ser tomado en cuenta cuando algún proceso de FES se diseñe (Becerra, 2006).

El control de la temperatura ambiente y de fermentación (cuadro 1) mostró que, aunque la temperatura ambiente tuvo una variación de aproximadamente 10 °C entre sus valores extremos, los valores de la temperatura de fermentación fueron más estables con sólo 5.9 °C de diferencia, durante todo el proceso de FES.

No se observó efecto estadístico significativo de la temperatura ambiente promedio ($28.85^{\circ}\text{C} \pm 3.3$), ni de los niveles de inclusión de HHMO sobre la temperatura promedio de fermentación ($26.07^{\circ}\text{C} \pm 1.94$). Los resultados indican que durante el proceso de FESCA con HHMO, hay una tendencia natural a que se mantenga la temperatura interna de fermentación del producto con una estabilidad relativa. Estos resultados coinciden con los reportados por Ruíz *et al.*, (2002). Así, para las condiciones de este experimento, con una temperatura ambiente entre 24.8 y 34.5°C la temperatura de fermentación sólo varió en un rango de 23.2 a 29.1°C a medida que avanzó la fermentación (cuadro 1).

El rango óptimo para el crecimiento de levaduras es de 30°C (Becerra 2006), aunque en la fermentación de caña de azúcar se han reportado temperaturas de 30 a 33°C (Lescano y Elías, 1992). Como se puede observar en la FESCA con HHMO (figura 1) durante las 36 horas, la temperatura de fermentación fue siempre menor a 30°C e inferior a la temperatura ambiente.

Estos datos sugieren un ligero efecto de la temperatura ambiente sobre la temperatura de FESCA con HHMO, lo cual puede ser un factor importante a tener en cuenta para su elaboración en condiciones comerciales de producción durante las horas del día al aire libre, indicando que eventualmente no sería posible debido a que la acción conjunta de una mayor temperatura ambiente y de la radiación solar inhibirían la acción microbiana en la que se fundamenta el proceso. El proceso de secado natural relativamente rápido, de la FESCA con HHMO, que se produce durante la exposición a los rayos solares parece confirmar esta observación.

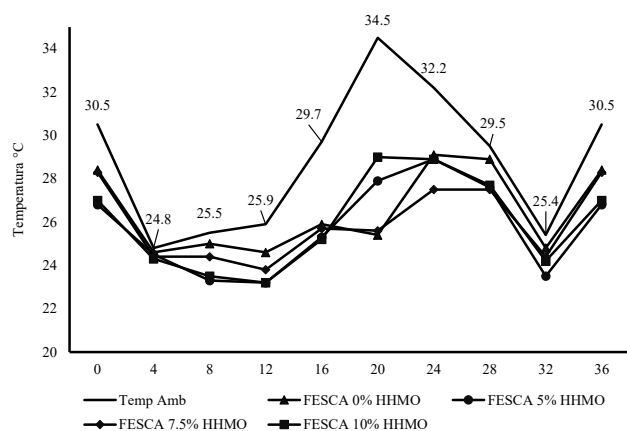


Figura 1. Temperatura ambiente y temperatura de fermentación durante el proceso de FESCA con diferentes niveles de HHMO.

Humedad. La humedad es un factor intrínsecamente ligado a la FES y con las particularidades del material biológico. La importancia del agua en el sistema es debido al hecho que la mayoría de las células viables se caracterizan por un contenido de humedad entre 70 y 80%. En este sentido, para el caso de bacterias, la humedad en el material deberá ser más del 70%; para las levaduras el rango puede ser entre 60 y 70%, y para los hongos, entre 20 a 70% (Becerra, 2006).

Es importante destacar que durante el proceso de FESCA con HHMO (36 horas) el contenido de humedad estuvo entre 70.9 y 57.3% (figura 2), en el rango de lo recomendado para la reproducción y crecimiento de levaduras. Se observa que la FESCA con 0% HHMO presenta un mayor contenido de humedad inicial que la FESCA con 5, 7.5, y 10% HHMO, probablemente debido a que a la adición de HHMO al ser un material seco, disminuye el contenido de humedad de las mezclas. No obstante, es importante resaltar que en todos los tratamientos ocurren mermas o pérdidas en el contenido de humedad, posiblemente debido a la evaporación de parte de la humedad del producto durante las 36 horas de fermentación por el efecto combinado de la temperatura y la humedad relativa ambiental.

Potencial de iones hidrógeno (pH). El pH es otro de los factores importantes en el proceso de fermentación. Cada microorganismo posee un rango de pH para su crecimiento y actividad con un valor óptimo dentro del rango. En general se ha observado que los hongos tienen rangos de crecimiento entre 3.5 y 6.0, las levaduras de 4.5 a 7.0 y las bacterias un poco más arriba que las levaduras sin que esto pueda ser tomado como una regla (Becerra, 2006).

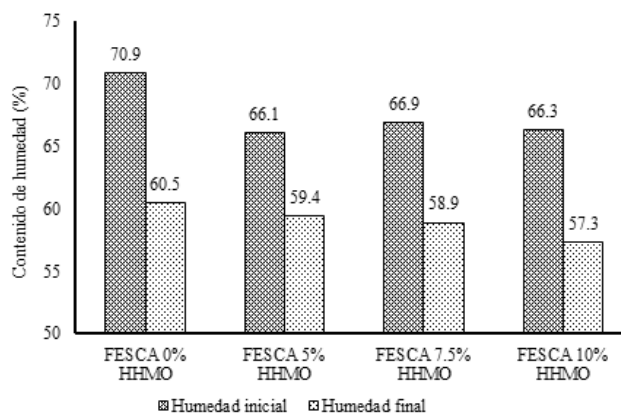


Figura 2. Contenido de humedad inicial y final (%) de la FESCA con diferentes niveles de HHMO durante las 36 horas del proceso de fermentación.

Cuadro 2. Variaciones de pH durante el proceso de 36 horas de FESCA con diferentes niveles de HHMO

Tratamientos	pH durante 36 horas de FES									
	0	4	8	12	16	20	24	28	32	36
FESCA 0% HHMO	5.07	6.13	6.37	6.07	5.97	5.73	5.83	5.67	5.37	5.07
FESCA 5% HHMO	5.87	5.93	6.53	6.00	5.90	5.63	5.37	5.20	4.97	5.87
FESCA 7.5% HHMO	5.47	6.47	6.63	6.20	5.93	5.70	5.70	5.37	4.97	5.47
FESCA 10% HHMO	5.83	6.07	6.50	6.00	6.03	5.73	5.53	5.03	4.90	5.83

En el cuadro 2 podemos observar que el pH del proceso de FESCA con diferentes niveles de HHMO durante las 36 horas se mantuvo en un rango de 5.03 y 6.63 con un promedio de 5.75 ± 0.46 acorde con lo recomendado para la reproducción de hongos y levaduras.

No se observó efecto significativo de la temperatura ambiente (28.85 ± 3.3), ni de los niveles de inclusión de HHMO sobre el pH del producto en fermentación (5.75 ± 0.46). Al igual que el experimento reportado por Ruiz *et al.*, (2002), el pH durante el proceso de FES muestra un comportamiento más independiente con respecto a la temperatura ambiente y los niveles de inclusión de HHMO en las diferentes horas, ya que se inició con un valor promedio de 5.56 el que incrementó ligeramente a 6.5 a las 8 horas de fermentación y luego descendió nuevamente manteniéndose uniforme hasta el final con un valor promedio de 5.56 a las 36 horas. Desde el punto de vista fermentativo, este resultado sugiere la presencia de condiciones favorables para el crecimiento microbiano, facilitadas por los aditivos utilizados.

Hay algunas diferencias acerca del pH de la FESCA con HHMO cuando se compara con el proceso fermentativo de saccharina rústica, reportadas por otros autores. Elías *et al.*, (1990) reportan valores de pH entre 4.4 y 4.5 que resultan muy inferiores al medido en este experimento, pero estos autores trabajaron con frascos Roux de

laboratorio. Valiño *et al.*, (1996), al trabajar con cámaras de ventilación forzada y temperaturas entre 42.1 y 49.3 °C, registraron valores de pH entre 5.4 y 5.7, que sí se encuentran en el rango hallado en este estudio.

Contenido de proteína bruta (PB), fibra detergente neutro (FDN) y digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS). El contenido de proteína bruta del tallo limpio de la caña de azúcar incrementa significativamente ($p < 0.05$) de 2.7% a 12.3% de PB y la DIVMS de 63.9 a 71.2%, mediante el proceso de fermentación en estado sólido con 0% de harina de hoja de *Moringa oleifera* (cuadro 3). Estos resultados están en el rango de valores reportados por otros autores, y se ubican entre 9.76 y 15.58 % de PB (Elías *et al.*, 1990; Valdivié *et al.*, 1997; Neto *et al.*, 2001). Estos autores aducen que algunos de los posibles factores que influyen en la obtención de diferentes niveles de PB en la FES de la caña de azúcar pueden ser el clima, la variedad de la caña de azúcar, el suelo y la época.

El contenido de proteína bruta en la FESCA aumenta significativamente ($p < 0.05$) de 12.3 a 24.3% cuando la inclusión de HHMO se incrementó de 0% a 10% y no existe diferencia estadística entre los niveles de inclusión de 5% y 7.5% de HHMO, con 20.8 y 21.4%, respectivamente (cuadro 3).

La inclusión de diferentes niveles de HHMO mejora significativamente la DIVMS, al comparar con la caña de azúcar, aunque no se encontraron diferencias significativas con el nivel de 0% de HHMO. Se observa una disminución significativa en el contenido de FDN al agregar HHMO, sin embargo, las diferencias no clasifican claramente de acuerdo a los niveles de inclusión de HHMO estudiados (cuadro 3).

Cuadro 3. Contenido de PB, FDN y DIVMS de caña de azúcar y FESCA con diferentes niveles de HHMO

Item	PB (%)	FDN (%)	DIVMS (%)
Caña de azúcar	2.7 a	46.5 a	63.9 a
FESCA 0% HHMO	12.3 b	44.4 a	71.2 b
FESCA 5% HHMO	20.8 c	44.2 a	71.7 b
FESCA 7.5% HHMO	21.4 c	41.9 ab	72.3 b
FESCA 10% HHMO	24.3 d	41.7 ab	72.7 b

Valores en una misma columna, seguidos de diferentes letras difieren estadísticamente entre sí, Tuckey ($p < 0.05$).

CONCLUSIONES

La inclusión de harina de hoja de *Moringa oleifera* como aditivo al proceso de fermentación en estado sólido de la caña de azúcar aumenta significativamente ($p<0.05$) el contenido de proteína bruta de 12.3 a 24.3% cuando la inclusión de harina de hoja de *Moringa oleifera* se incrementó de 0% a 10%, mejora significativamente la digestibilidad *in vitro* de la materia seca, disminuye el contenido

de fibra detergente neutro y no tiene efecto significativo sobre la temperatura de fermentación ($26.4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2.48$) y el pH (5.69 ± 0.48) del producto en fermentación. Se recomienda la inclusión de HHMO al 10% como la proporción más adecuada para estimular el crecimiento microbiano y aumentar su contenido proteico, sin afectar los patrones fermentativos de la FES de la caña de azúcar.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC (Association of official analytical chemists). 1984. Official methods of analysis. 14 ed. Washington, US.
- Becerra B, A. 2006. Aprovechamiento de subproductos de manzana mediante la producción de proteína microbiana con fermentación en estado sólido para la alimentación animal. Tesis para obtener el grado de Doctor in Philosophia. Universidad Autónoma de Chihuahua, Facultad de Zootecnia, Secretaría de Investigación y Posgrado. 107 páginas
- Elias, A; Lezcano, O; Lezcano, P; Cordero, J; Quintana, L. 1990. Reseña descriptiva sobre el desarrollo de una tecnología de enriquecimiento proteico de la caña de azúcar mediante fermentación en estado sólido saccharina. Revista Cubana de Ciencia Agrícola. 24:3-12.
- INETER (Instituto Nicaragüense de Estudios Territoriales). 2009. Informe meteorológico. Estación Aeropuerto Inter nacional “Augusto Cesar Sandino”, Código 69027. Las Mercedes, Managua, NI.
- Lescano, O; Elias, A. 1992. Efecto de la temperatura y la urea en la fermentación de la caña de azúcar para producir saccharina. Revista Cubana de Ciencia Agrícola. 26:291-296
- Makkar, H; Becker, K. 1996. Nutritional value and antinutritional components of whole and ethanol extracted *Moringa oleifera* leaves. Anim. Feed Sci. Technol. 63:211–228.
- Mbwile, R; Udén, P. 1991. Comparison of laboratory methods on precision and accuracy of predicting forage organic matter digestibility. Animal Feed Science and Technology. 32(4):243-251.
- Mendieta-Araica, B; Spordly, E; Reyes-Sánchez, N; Spordly, R. 2011. Feeding *Moringa oleifera* fresh or ensiled to cows, effects on milk yield and milk flavor. Tropical Animal Health and Production 43:1039–1047.
- Mendieta-Araica, B; Spordly, R; Reyes-Sánchez, N; Norell, L; Spordly, E. 2010. Moringa (*Moringa oleifera*) leaf meal as a source of protein in locally produced concentrates for dairy cows fed low protein diets in tropical areas. Livestock Science Vol. 137:10-17.
- Minitab. 2014. Minitab User's Guide 2. Data Analysis and Quality tools, Release 16 for Windows, Minitab Inc. Pennsylvania, USA.
- Neto, AI; Pereira De Rezende, CA; Cruz, V; Torres, DM. 2001. Desempeño de novillos mestizos en confinamiento alimentados con ensilado mixto y Saccharina. Revista Cubana Ciencia Agrícola. 35:19-24.
- Perdomo, P. 1991. Adaptación edáfica y valor nutritivo de 25 especies y accesiones de leguminosas arbóreas y arbustivas en dos suelos contrastantes. Tesis de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuaria. Palmira, CO. 128 p.
- Reyes Sánchez, N; Mendieta Araica, B; Fariñas, T; Mena, M; Cardona, J; Pezo, D. 2009. Elaboración y utilización de ensilajes en la alimentación del ganado bovino. Serie técnica, Manual técnico / CATIE N° 91. Managua, NI. 98 p.
- Reyes Sánchez, N; Rodríguez, R; Mendieta Araica, B; Mejía Sovalbarro, L; Mora Taylor, A. 2009. Efecto de la suplementación con *Moringa oleifera* sobre el comportamiento productivo de ovinos alimentados con una dieta basal de pasto guinea (*Panicum maximum* Jacq.). La Calera 9(13):60-69.
- Reyes-Sánchez, N; Ledin, S; Ledin, I. 2006. Biomass production and chemical composition of *Moringa oleifera* under different management regimes in Nicaragua. Agroforestry Systems 66:231–242
- Ruiz, C; Ruiz, M; Ruiz, G; Torres, V. 2002. Efecto de la inclusión de sulfato de amonio en el aditivo para la elaboración de Saccharina rústica. Revista Cubana de Ciencias Agrícolas. 36(2):153-158.
- Valdivié, M; González, LM; Elías, A. 1997. Nuevos tipos de Saccharina para aves. Rev. Cubana Ciencias Agríc. 30:189-194
- Valiño, E; Elías, A; Álvarez, E; Albelo, N. 1996. Caracterización del funcionamiento de la cámara de fermentación para la producción de saccharina. Revista Cubana Ciencia Agrícola. 30:67-72
- Van Soest, P; Robertson, J; Lewis, B. 1991. Methods for dietary fiber, neutral-detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. J Dairy Sci 74:3583–3597.
- Vivas, NJ; Carvajal, J. 2004. Rustic saccharine, a biotechnological application for animal feeding. Rev. Facultad de Ciencias Agropecuarias 2(1):43-48.